

PCT

世界知的所有権機関  
国際事務局  
特許協力条約に基づいて公開された国際出願



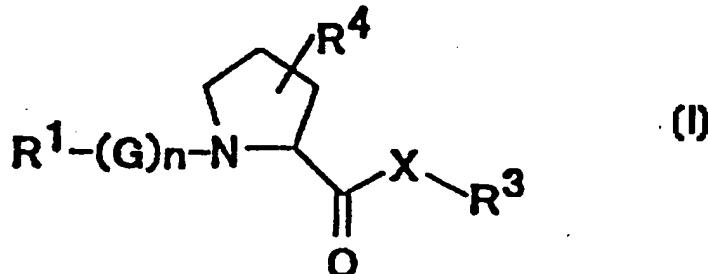
(51) 国際特許分類6 A61K 31/40, 31/415, 31/42, 31/425, 31/445, 31/495, 31/535, 35/05, 35/06, 35/55, C07D 207/16, 405/12, 413/12, 417/12, C07K 5/078, 5/083	A1	(11) 国際公開番号 WO98/01133
(21) 国際出願番号 PCT/JP97/02357		(43) 国際公開日 1998年1月15日(15.01.98)
(22) 国際出願日 1997年7月8日(08.07.97)		
(30) 優先権データ 特願平8/177955 1996年7月8日(08.07.96)	JP	五十嵐進(IGARASHI, Susumu)[JP/JP] 〒305 茨城県つくば市小野川4-19 Ibaraki, (JP) (74) 代理人 弁理士 長井省三, 外(NAGAI, Shozo et al.) 〒174 東京都板橋区小豆沢1丁目1番8号 山之内製薬株式会社 特許情報部内 Tokyo, (JP)
(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 山之内製薬株式会社 (YAMANOUCHI PHARMACEUTICAL CO., LTD.)[JP/JP] 〒103 東京都中央区日本橋本町2丁目3番11号 Tokyo, (JP)		(81) 指定国 AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CU, CZ, EE, GE, GH, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SD, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ARIPO特許 (GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), ヨーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
(72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 相部和彦(AJIBE, Kazuhiko)[JP/JP] 〒270-01 千葉県流山市富士見台二丁目14番8-202 Chiba, (JP) 竹林幸弘(TAKEBAYASHI, Yukihiro)[JP/JP] 〒305 茨城県つくば市二の宮二丁目5番9-312 Ibaraki, (JP) 石井康高(ISHII, Yasutaka)[JP/JP] 〒305 茨城県つくば市松代三丁目6番13-301 Ibaraki, (JP) 野城 修(NOSHIRO, Osamu)[JP/JP] 〒301 茨城県竜ヶ崎市長山六丁目15番9号 Ibaraki, (JP) 野田一生(NODA, Ichio)[JP/JP] 〒305 茨城県つくば市春日二丁目35番2-304 Ibaraki, (JP)		添付公開書類 国際調査報告書

(54) Title: BONE RESORPTION INHIBITORS

(54) 発明の名称 骨吸収阻害剤

(57) Abstract

Drugs, in particular, bone resorption inhibitors containing as the active ingredient compounds having selective cathepsin K inhibitory effects, among all, proline derivatives represented by general formula (I) or pharmaceutically acceptable salts thereof, wherein each symbol has the meaning as specified below: X: a moiety (except for the C-terminal carbonyl group) of an amino acid residue with its side chain optionally protected; R<sup>1</sup>: an amino-protective group; G: a glycine residue; n: 0 or 1; R<sup>3</sup>: a group inhibiting the activity of the SH group of cysteine protease; and R<sup>4</sup>: hydrogen, hydroxy or phenyl.



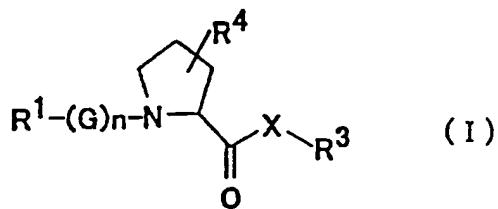
031356 U.S. PTO  
10/772678



(57) 要約

医薬、特に選択的カテプシンK阻害作用を有する化合物、とりわけ下記一般式

(I) で示されるプロリン誘導体又はその製薬学的に許容される塩を有効成分とする骨吸収阻害剤に関する。



(式中の記号は以下の意味を示す。)

X : 側鎖が保護されていてもよいアミノ酸残基のC末端カルボニル基を除く部分、

R<sup>1</sup> : アミノ基の保護基、

G : グリシン残基、

n : 0 又は1、

R<sup>3</sup> : システインプロテアーゼのSH基の活性を阻害する基、

R<sup>4</sup> : 水素原子、水酸基又はフェニル基。)

参考情報

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に記載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード

AL	アルベニア	ES	スペイン	LR	リベリア	SG	シングガポール
AM	アルメニア	FI	フィンランド	LS	レソト	SI	スロヴェニア
AT	オーストリア	FR	フランス	LT	リトアニア	SK	スロヴァキア共和国
AU	オーストラリア	GA	ガボン	LU	ルクセンブルグ	SL	シェラレオネ
AZ	アゼルバイジャン	GB	英国	LV	ラトヴィア	SZ	セネガル
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE	グルジア	MC	モナコ	SZ	スウェーデン
BB	ベルバドス	GH	ガーナ	MD	モルドバ共和国	TD	チャード
BE	ベルギー	GM	ガンビア	MG	マダガスカル	TG	トーキー
BF	ブルガニア・ファソ	GN	ギニア	MK	マケドニア旧ユーゴス	TJ	タジキスタン
BG	ブルガリア	GR	ギリシャ	ML	ラヴィア共和国	TM	トルクメニスタン
BJ	ベナン	HU	ハンガリー	MN	マリ	TR	トルコ
BR	ブラジル	ID	インドネシア	MR	モンゴル	TT	トリニダード・トバゴ
BY	ベラルーシ	IE	アイルランド	MW	モーリタニア	UA	ウクライナ
CA	カナダ	IL	イスラエル	MX	モラウイ	UG	ウガンダ
CF	中央アフリカ共和国	IS	アイスランド	NE	メキシコ	US	米国
CG	コンゴー	IT	イタリア	NL	ニジール	UZ	ウズベキスタン
CH	スイス	JP	日本	NO	オランダ	VN	ヴィエトナム
CI	コート・ジボアール	KE	ケニア	NZ	ノルウェー	YU	ユーロラビア
CM	カメルーン	KG	キルギスタン	P	ニュージーランド	ZW	ジンバブエ
CN	中国	KP	朝鮮民主主義人民共和国	PL	ポーランド		
CU	キューバ	KR	大韓民国	PT	ポルトガル		
CZ	チェコ共和国	KZ	カザフスタン	RO	ルーマニア		
DE	ドイツ	LC	セントルシア	RU	ロシア連邦		
DK	デンマーク	LK	リビテンシティン	SD	スードアン		
EE	エストニア		スリランカ	SE	スウェーデン		

## 明細書

### 骨吸収阻害剤

#### 技術分野

本発明は、医薬、特に選択的カテーテンK阻害作用を有する化合物を含有する骨吸収阻害剤、とりわけプロリン誘導体又はその製薬学的に許容される塩を含有する骨吸収阻害剤に関する。本発明はまた、選択的カテーテンK阻害作用を有し骨吸収阻害剤として有用な新規なプロリン誘導体又はその製薬学的に許容される塩に関する。

#### 背景技術

近年、骨形成不全及び骨崩壊促進を伴う骨疾患は、高齢者人口の増加、女性の閉経年齢の延長、腎透析患者の増加、悪性腫瘍性高カルシウム血症などの疾患の増加等を背景に、増加の一途をたどっている。なかでも骨粗鬆症は骨折を招きやすく、寝たきり老人を生み出す原因ともなることから、その有効な予防及び治療の確立が望まれている。

正常な骨代謝は、骨形成と骨吸収のバランスの上に成り立っている。

骨吸収とは、骨支持組織の無機質であるカルシウム塩と有機成分であるタイプI コラーゲンの双方を同時に排出することを含み、破骨細胞はこの骨吸収において重要な役割を演じている多核巨細胞である。すなわち、破骨細胞が骨に接触すると破骨細胞と骨表面間に酸性のミクロ環境を作り [J. Cell. Biol. 101, 2210-2222 (1985)、及びAnat. Rec. 224, 317-324(1989)]、骨の無機及び有機成分の融解が起こる。また、タイプI コラーゲンは、プロテアーゼによる消化によって分解されていると考えられている。

骨崩壊は骨形成と骨吸収のバランスが崩れ、骨吸収が相対的に高まることにより惹起する。これまでの研究によれば、骨崩壊の分子レベルの要因は、カルシウム吸収及び沈着の不全に関するものと、骨支持組織である有機成分であるコラーゲン織

維の分解亢進に関するものの二種であることが明らかとなってきた。

従って、骨コラーゲン繊維の分解亢進を抑制する薬剤は、骨吸収を阻害し骨粗鬆症などの骨崩壊促進を伴う骨疾患の予防又は治療薬となりうると期待されている。

破骨細胞による骨吸収過程において、骨支持組織の有機成分であるタイプIコラーゲンがリソゾーム中のシステインプロテアーゼ、特にカテプシンLにより極めてよく分解されることが明らかにされ、骨コラーゲン繊維の分解にはシステインプロテアーゼ、特にカテプシンLが重要な役割を演じており、その分解を抑制する薬剤としてカテプシンL阻害剤が有用であろうと考えられてきた[FEBS Lett. 280, 311-315(1991)、Delaisse, J. M. & Vaes, G. (1992) in: *Biology and Physiology of the Osteoclast* (Rifkin, B. R. & Gay, C. V., eds) pp. 290-314, CRC Press, Boca Raton.、J. Histochem. Cytochem. 41, 1075-1083(1993)、BIomedica 7(6), 629 (1992)、FEBS Lett. 342, 308-312(1994)、FEBS Lett. 336. 289-292(1994)及び、J. Biol. Chem. 269, 1106-1109(1994)]。

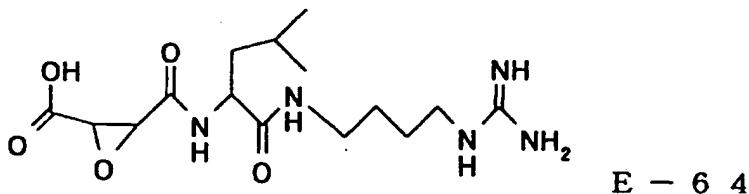
しかしながら、カテプシンLは生体内で破骨細胞以外の種々の組織・細胞に存在しているので、その阻害活性は、破骨細胞以外の組織・細胞にも影響を与えることが危惧される。

一方、ウサギから破骨細胞特異的に発現する新規のカテプシン遺伝子（カテプシンK）が単離された。このカテプシンKはカテプシンS及びLと高度の相同性を示すことが報告されている[J. Biol. Chem. 269, 1106-1109(1994)]。さらに、ヒトカテプシンKの分子クローニングについての報告もなされており、このヒトカテプシンK（別名カテプシンO、O2又はXとも報告される）は、ウサギカテプシンKと94%の同一性を有していて、破骨細胞で主に発現したことが示されている[Biochem. Biophys. Res. Commun. 206, 89-96(1995)、及び J. Biol. Chem. 271, 21, 12511-516(1996)]。

特許国際公開WO95/24182号公報には、カテプシンOをコードするポリヌクレオチド等の発明が開示されている。該公報には、その具体的な発明と共にカテプシンOの阻害による骨粗鬆症、骨転移腫瘍の治療の可能性を開示しているが、カテプシンOが破骨細胞特異的である事実以外には、何等その根拠は開示されていない。

下式に示すカテプシンL阻害作用を有する化合物E-64は、カテプシンK阻害作用をも有することが報告されている (FEBS Lett. 357, 129-134(1995)、J. Biol. Chem. 271, 2126-2132(1996)、及びJ. Biol. Chem. 271, 12517-12524(1996))。

このE-64は骨吸収阻害活性を有するが、非選択性で広域なシスティンプロテアーゼ阻害剤であるため、その作用がカテプシンK阻害作用に基づくものか、あるいはカテプシンLに基づくものか不明であった。



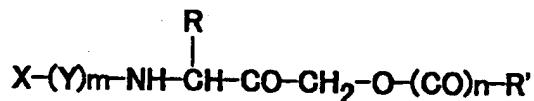
特開平5-345754号、特開平7-89986号、及び特開平5-178758号には、Leu-Leu、Leu-Met、Leu-Leu-Leu等のジペプチド若しくはトリペプチドの誘導体が記載され、これらが骨疾患の予防又は治療に有用であることが記載されている。しかし、これらの化合物のカテプシンK阻害作用については何等記載がない。

J. Biol. Chem. 271, 21, 12517-524には、カテプシンKの基質特異性を検討した結果、最も良好な基質であるCbz-Leu-Arg-AMC (Cbz:ベンジルオキシカルボニル基、AMC:蛍光团) をはじめ、複数の基質がカテプシンKにより分解されることが開示されている。分解される基質の1つとして、Cbz-Gly-Pro-Arg-AMCも開示されているが、他のカテプシンとの選択性に関しては何等開示されていない。また、具体的なカテプシンK阻害剤についても記載がない。

今までカテプシンKを選択性的に阻害する化合物は全く報告されておらず、また、カテプシンKの選択性的阻害作用に基づくことが明らかな骨吸収阻害活性についても全く報告されていない。

一方、特開昭63-253061号公報には、本発明の一部の化合物を包含する、下式でしめされるカテプシンB阻害作用を有するアミノ酸誘導体が開示され、骨吸収の処置又は予防に使用される旨の記載があるが、具体的に示されているのはカテプシンBのアッセイ試験の結果のみであり、実際に骨吸収の処置又は予防に対する

る効果については具体的に開示がない。その後のカテプシンB阻害剤の研究により、カテプシンBを選択的に阻害する化合物によっては、骨吸収が阻害されないことが報告されている (FEBS Lett. 321, 247-250 (1993))。



(式中、nは0又は1であり、mは0、1又は2であり、XはH又はN—保護基であり、Yは各々独立して保護されていてもよいα—アミノ酸残基であり、RはH若しくはCH<sub>3</sub>であるか、又はメチレン、メチン若しくはフェニル基で、それが結合しているα—炭素原子に結合している、所望により保護されていてもよいα—アミノ酸側鎖であり、R'は所望により置換されていてもよいアリールである。)

#### 発明の開示

上記のように、破骨細胞特異的に発現しているカテプシンKは骨吸収に関与することが期待されてきたが、カテプシンKと相同性を有するカテプシンBのように阻害しても骨吸収阻害作用を示さない例もあり、その作用の解明が切望されていた。

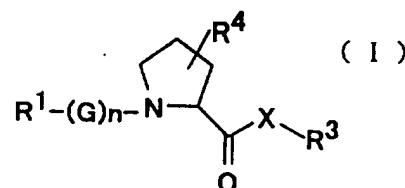
このような技術水準下、本発明者等はウサギカテプシンKおよびヒトカテプシンLを用いたスクリーニング系により、市販の合成基質を被験化合物としてスクリーニングを実施しカテプシンK選択的な構造を探索した。その結果、プロリンーアルギニン (Pro-Arg) の部分構造を有する合成基質がカテプシンKのみによって選択的に加水分解されることを見出した。そこで、このPro-Arg構造とともにアミノ酸の変換を行い、またN末端にアミノ酸の保護基をC末端にシステインプロテアーゼのSH基の活性を阻害する基の導入を行い、検討を重ねた結果、本発明の選択性に優れたカテプシンK阻害作用を有する化合物群を見出した。そして、これらの選択的カテプシンK阻害作用を有する化合物が優れた骨吸収阻害作用を有することを確認し、本発明を完成したものである。

カテプシンKに対して選択性を有する本願化合物は、カテプシンL等の他のシステインプロテアーゼ阻害作用に基づく好ましくない生理作用を有することなく、破

骨細胞特異的に作用する骨吸収阻害剤として、骨崩壊を伴う骨疾患の予防又は治療剤として有用である。

即ち、本発明は、選択的カテプシンK阻害作用を有する化合物と製薬学的に許容される担体とからなる骨吸収阻害剤に関する。本発明の選択的カテプシンK阻害作用を有する化合物とは、他のシステインプロテアーゼ（特にカテプシンL）の活性を阻害することなく、カテプシンKの活性のみを選択的に阻害する作用を有する化合物である。好ましくは、選択的カテプシンK阻害作用を有する化合物が、本願明細書記載の実験例1の試験方法において、そのカテプシンK阻害作用がカテプシンL阻害作用より50倍以上、より好ましくは100倍以上強い値を有し、かつそのカテプシンK阻害作用がカテプシンB、パパイン、トリプシン、キモトリプシン並びにスロンビンに対する阻害作用より10倍以上強い値を有する化合物である骨吸収阻害剤である。

殊に、選択的カテプシンK阻害作用を有する化合物が、下記一般式（I）で示されるプロリン誘導体又はその製薬学的に許容される塩である骨吸収阻害剤が好ましい。



（式中の記号は以下の意味を示す。

X：側鎖が保護されていてもよいアミノ酸残基のC末端カルボニル基を除く部分、

R<sup>1</sup>：アミノ基の保護基、

G：グリシン残基、

n：0又は1、

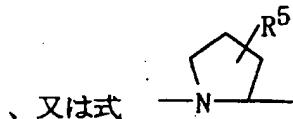
R<sup>3</sup>：システインプロテアーゼのSH基の活性を阻害する基、

R<sup>4</sup>：水素原子、水酸基又はフェニル基。）

上記一般式(I)で示される化合物中、更に好ましくは、

(a) Xが側鎖が保護されていてもよいα-アミノ酸残基のC末端カルボニル基を除く部分である化合物、

(b) Xが式-NH-CHR<sup>2</sup>-（式中、R<sup>2</sup>は水素原子、アルキル基、低級アルケニル基、アリール基、アラルキル基、イミダゾール-4-イルー低級アルキル基又はインドール-3-イルー低級アルキル基であり、当該アルキル基及び低級アルケニル基は、ハロゲン原子、低級アルコキシ基、水酸基、メルカプト基、アルキルチオ基、アラルキルオキシ基、アリールオキシ基、ニトロ基、カルボキシル基、カルバモイル基、モノ若しくはジー低級アルキルカルバモイル基、低級アルカノイルアミノ基、アミノ基、モノ若しくはジー低級アルキルアミノ基、グアニジノ基及びニトログアニジノ基から選択される1以上の置換基で置換されていてもよく、また、アリール基及びアラルキル基は、低級アルキル基、ハロゲン原子、低級アルコキシ基、水酸基、メルカプト基、アルキルチオ基、ニトロ基、カルボキシル基、トリフルオロメチル基、カルバモイル基、モノ若しくはジー低級アルキルカルバモイル基、低級アルカノイルアミノ基、アミノ基、モノ若しくはジー低級アルキルアミノ基、グアニジノ基及びニトログアニジノ基から選択される1以上の置換基で置換されていてもよい。また、R<sup>2</sup>の上記の基が、酸素、硫黄若しくは窒素原子を含む官能基を有する場合は、これらの官能基が保護されていてもよい。）



（式中、R<sup>5</sup>は水素原子、水酸基又はフェニル基を示す。）で示される基である化合物。

(c) R<sup>3</sup>のシステインプロテアーゼのSH基の活性を阻害する基が、アルデヒド基；シアノ基；式-C(=O)CF<sub>3</sub>、-C(=O)CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、-P(=O)(OH)<sub>2</sub>、-C(=O)CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>Cl、-SO<sub>2</sub>F、若しくは-BY<sup>1</sup>Y<sup>2</sup>（式中、Y<sup>1</sup>及びY<sup>2</sup>は同一又は異なって、水酸基、フルオロ基、低級アルコキシ基又は低級アルキル基でモノ若しくはジー置換されていてもよいアミノ基を示す。）で示される基；低級アルコキシカルボニル

# **Attachment for PTO-948 (Rev. 03/01, or earlier)**

**6/18/01**

**The below text replaces the pre-printed text under the heading, "Information on How to Effect Drawing Changes," on the back of the PTO-948 (Rev. 03/01, or earlier) form.**

## **INFORMATION ON HOW TO EFFECT DRAWING CHANGES**

### **1. Correction of Informalities -- 37 CFR 1.85**

New corrected drawings must be filed with the changes incorporated therein. Identifying indicia, if provided, should include the title of the invention, inventor's name, and application number, or docket number (if any) if an application number has not been assigned to the application. If this information is provided, it must be placed on the front of each sheet and centered within the top margin. If corrected drawings are required in a Notice of Allowability (PTOL-37), the new drawings **MUST** be filed within the **THREE MONTH** shortened statutory period set for reply in the Notice of Allowability. Extensions of time may NOT be obtained under the provisions of 37 CFR 1.136(a) or (b) for filing the corrected drawings after the mailing of a Notice of Allowability. The drawings should be filed as a separate paper with a transmittal letter addressed to the Official Draftsperson.

### **2. Corrections other than Informalities Noted by Draftsperson on form PTO-948.**

All changes to the drawings, other than informalities noted by the Draftsperson, **MUST** be made in the same manner as above except that, normally, a highlighted (preferably red ink) sketch of the changes to be incorporated into the new drawings **MUST** be approved by the examiner before the application will be allowed. No changes will be permitted to be made, other than correction of informalities, unless the examiner has approved the proposed changes.

#### **Timing of Corrections**

Applicant is required to submit the drawing corrections within the time period set in the attached Office communication. See 37 CFR 1.85(a).

Failure to take corrective action within the set period will result in **ABANDONMENT** of the application.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**